

工作简报

# 高效液相色谱法测定小儿热速清口服液中绿原酸、黄芩苷和葛根素

许海棠<sup>1</sup>, 黄富嵘<sup>2</sup>, 廖 艺<sup>3</sup>

(1. 广西民族大学 化学与生态工程学院, 南宁 530006; 2. 广西大学 化学化工学院, 南宁 530004;  
3. 南宁市第二人民医院, 南宁 530031)

**摘要:** 用高效液相色谱法测定一种中成药“小儿热速清”口服液中的绿原酸、黄芩苷和葛根素含量。采用 Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱分离, 以不同比例混合的甲醇和乙酸-水(1+99)溶液为流动相, 进行梯度洗脱, 在 327 nm 波长处测定绿原酸、黄芩苷的含量, 在 250 nm 波长处测定葛根素的含量。绿原酸质量浓度在 3.0~30.0 mg·L<sup>-1</sup> 范围内呈线性关系; 黄芩苷质量浓度在 2.7~27.0 mg·L<sup>-1</sup> 范围内呈线性关系; 葛根素质量浓度在 3.1~31.0 mg·L<sup>-1</sup> 范围内呈线性关系。方法的平均回收率为 99.5%, 99.8%, 99.3%, 相对标准偏差(n=6)分别为 0.88%, 0.84%, 1.0%。

**关键词:** 高效液相色谱法; 小儿热速清口服液; 绿原酸; 黄芩苷; 葛根素

中图分类号: O652.63 文献标志码: A 文章编号: 1001-4020(2011)11-1326-03

## HPLC Determination of Chlorogenic Acid, Baicalin and Puerarin in a TCM Preparation of “Xiao-er Resuqing” Oral Liquor

XU Hai-tang<sup>1</sup>, HUANG Fu-rong<sup>2</sup>, LIAO Yi<sup>3</sup>

(1. College of Chemistry and Ecological Engineering, Guangxi National University, Nan'ning 530006, China;  
2. College of Chem. and Chem. Eng., Guangxi University, Nan'ning 530004, China;  
3. Nan'ning Municipal 2nd People's Hospital, Nan'ning 530031, China)

**Abstract:** The effective components, i. e. chlorogenic acid, baicalin and puerarin, in a TCM preparation, named “xiao-er resuqing” oral liquor, were determined by HPLC. The Zorbax SB-C<sub>18</sub> chromatographic column was used as the stationary phase and mixtures of methanol and CH<sub>3</sub>COOH-H<sub>2</sub>O (1+99) solution with various proportions were used in the gradient elution. UV detections at 327 nm (for chlorogenic acid and baicalin) and at 250 nm (for puerarin) were adopted in the determinations. Linear relationships between values of peak area and mass concentration of the 3 compounds were found in the following ranges of ① 3.0–30.0 mg·L<sup>-1</sup>, ② 2.7–27.0 mg·L<sup>-1</sup> and ③ 3.1–31.0 mg·L<sup>-1</sup> respectively. Values of average recovery obtained were 99.5% (for chlorogenic acid), 99.8% (for baicalin) and 99.3% (for puerarin). Values of RSD's (n=6) found for the 3 compounds were 0.88%, 0.84% and 1.0% respectively.

**Keywords:** HPLC; “Xiao-er resuqing” oral liquid; Chlorogenic acid; Baicalin; Puerarin

小儿热速清口服液是由柴胡、黄芩、板蓝根、葛根、金银花、水牛角、连翘、大黄等多味药材加工制成, 具有清热解毒、泻火利咽的功效, 用于小儿风热

感冒、发热头痛、咽喉红肿、鼻塞流涕、咳嗽、便秘等症。研究表明: 黄芩中含有大量黄酮类化合物, 如黄芩苷, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗病毒和抗变态<sup>[1]</sup>等生物活性。绿原酸为金银花中的有效成分, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗菌、抗病毒等生物活性<sup>[2]</sup>。葛根素为葛根中的有效成分, 具有降血压、降血糖、抗肿瘤、免

收稿日期: 2010-10-24

作者简介: 许海棠(1975-), 女, 广西宾阳人, 高级实验师, 硕士, 主要从事中药分析研究。

疫调节等作用<sup>[3]</sup>。目前,文献只报道了用高效液相色谱法测定小儿热速清颗粒中黄芩苷的含量<sup>[4]</sup>。本工作采用高效液相色谱法测定了小儿热速清口服液液中绿原酸、黄芩苷以及葛根素的含量,为该制剂的质量控制提供了研究依据。

## 1 试验部分

### 1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪。

对照品溶液:称取适量绿原酸和黄芩苷对照品置于 100 mL 容量瓶中,分别用甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,配成  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  绿原酸的对照品储备溶液和  $90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  黄芩苷对照品储备溶液;称取适量葛根素对照品置于 100 mL 容量瓶中,用甲醇(3+7)溶液溶解并稀释至刻度,摇匀,配成  $124 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  葛根素对照品储备溶液。

乙酸、甲醇为色谱纯,其它试剂均为分析纯,试验用水为超纯水。

### 1.2 色谱条件

Zorbax SB-C<sub>18</sub> 色谱柱(3.0 mm × 250 mm, 5 μm);柱温 25 °C,进样量 2 μL;测定绿原酸和黄芩苷的流动相:A 为甲醇,B 为乙酸-水(1+99)溶液;流量  $0.35 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ;梯度洗脱程序:0~7.0 min, A 为 40%;7.1~20.0 min, A 由 40% 增至 60%;检测波长 327 nm。测定葛根素的流动相:A 为甲醇,B 为乙酸-水(1+99)溶液,流量  $0.35 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ;梯度洗脱程序:0~7.0 min, A 为 38%;7.1~15.0 min, A 由 38% 增至 70%;检测波长 250 nm。

### 1.3 试验方法

移取小儿热速清口服液 1.00 mL,用水定容至 100 mL 容量瓶。使用时摇匀,静置,吸取上清液,经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,按色谱条件进行测定。按处方药的比例,配制不含黄芩、葛根、金银花的群药,按其工艺制成空白制剂,再按供试品溶液的制备方法制备阴性样品溶液。

## 2 结果与讨论

### 2.1 检测波长的选择

分别取绿原酸、黄芩苷、葛根素对照品溶液在波长 200~400 nm 范围内进行光谱扫描,结果发现:绿原酸和黄芩苷在波长 327 nm 处有很强吸收,葛根素在波长 250 nm 处有强吸收,在波长 327 nm 处吸收弱。试验选择绿原酸和黄芩苷的检测波长为

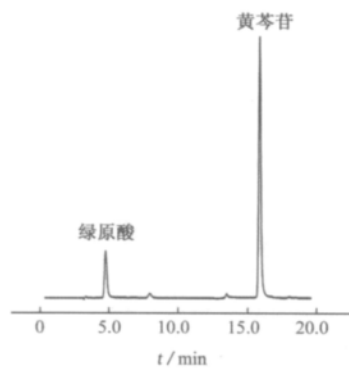
327 nm,葛根素的检测波长为 250 nm。

### 2.2 流动相的选择

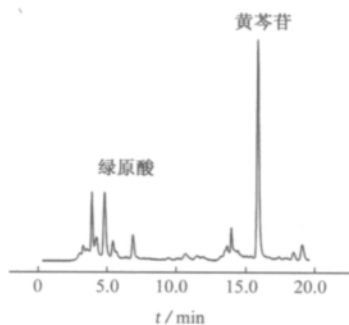
进行绿原酸和黄芩苷的测定时,由于绿原酸拖尾严重,以甲醇-水溶液为流动相,考察了将乙酸溶液加入到流动相对测定的影响,结果表明:在流动相中加入乙酸(1+99)溶液,绿原酸的色谱峰峰形较好。采用等度洗脱,不能使被测组分与样品中其它组分达到基线分离。因此,试验选择流动相 A 为甲醇,B 为乙醇-水(1+99)溶液,梯度洗脱。进行葛根素的测定时,也采取上述流动相,色谱峰峰形较好,经优化确定采用梯度洗脱的方式进行分析,洗脱程序见 1.2 节。

### 2.3 阴性试验

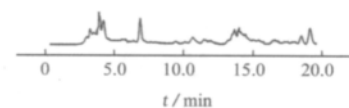
在色谱条件下,分别取对照品、阴性样品溶液和小儿热速清口服液样品溶液进行分析,色谱图见图 1 和图 2。



(a) 对照品



(b) 小儿热速清口服液样品



(c) 阴性样品

图 1 绿原酸、黄芩苷对照品溶液(a)、小儿热速清口服液样品(b)和阴性样品溶液(c)的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of (a) mixed reference standards, (b) sample of the medicine and (c) negative sample

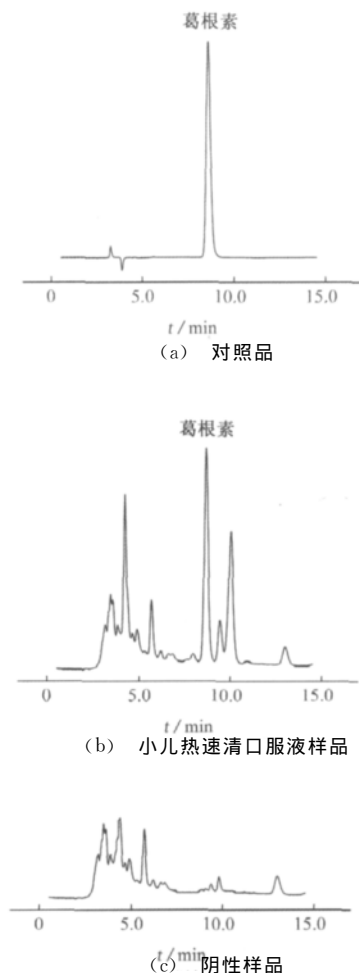


图2 葛根素对照品(a)、小儿热速清口服液样品(b)和阴性样品溶液(c)的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of (a) puerarin, (b) sample of the medicine and (c) negative sample

试验结果表明:阴性样品溶液与对照品溶液比对在相同保留时间处,无待测组分的特征色谱峰出现,故认为无干扰,方法可行。

## 2.4 标准曲线

将绿原酸、黄芩苷、葛根素的对照品储备液用甲醇稀释,配成一系列的工作溶液,在选定色谱条件下对对照品溶液系列进行测定。以峰面积对对照品溶液质量浓度进行线性回归,得到三组分的线性回归方程及相关系数,见表1。

表1 线性范围、线性回归方程和相关系数

Tab. 1 Linearity ranges, linear regression equations and correlation coefficients

组分	线性范围 $\rho / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	线性回归方程	相关系数
绿原酸	3.0~30.0	$y = 1.63 \times 10^4 \rho - 0.42$	0.999 9
黄芩苷	2.7~27.0	$y = 7.37 \times 10^3 \rho - 0.53$	0.999 9
葛根素	3.1~31.0	$y = 2.30 \times 10^4 \rho - 1.21$	0.999 8

## 2.5 精密度与重复性试验

取各对照品溶液,在色谱条件下连续进样6次,测定峰面积。计算得绿原酸、黄芩苷、葛根素峰面积的相对标准偏差分别为0.62%,0.41%,0.53%。

取同一批样品6份,按试验方法制得样品溶液,在色谱条件下进行测定。计算得绿原酸、黄芩苷、葛根素峰面积的相对标准偏差分别为1.8%,1.5%,1.7%。

## 2.6 稳定性试验

取一份样品溶液,分别在0,2,4,6,8,10,12 h按色谱条件进样测定。测得样品中被测组分峰面积的相对标准偏差分别为1.3%,1.0%,1.2%。样品溶液在12 h内稳定性良好。

## 2.7 回收试验

移取已知含量( $2.605 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 绿原酸, $1.930 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 黄芩苷和 $0.905 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 葛根素)的小儿热速清口服液0.50 mL,共9份,分别按已知含量的60%,100%,140%3个水平加入绿原酸、黄芩苷和葛根素对照品,按试验方法制得加标样品溶液。进样测定,计算得绿原酸、黄芩苷和葛根素的平均回收率分别为99.5%,99.8%,99.3%,相对标准偏差分别为0.88%,0.84%,1.0%。

## 2.8 样品分析

分别取3个不同批号的小儿热速清口服液样品,按试验方法制备样品溶液,进样测定,样品中绿原酸、黄芩苷、葛根素的测定结果见表2。

表2 样品分析结果( $n=6$ )

Tab. 2 Analytical results of samples

样号	绿原酸		黄芩苷		葛根素	
	测定值 $\rho / (\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	RSD /%	测定值 $\rho / (\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	RSD /%	测定值 $\rho / (\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	RSD /%
1	2.605	0.86	1.930	0.69	0.905	0.93
2	2.518	0.97	1.716	0.83	0.862	1.2
3	2.346	1.1	1.822	1.1	1.163	1.3

## 参考文献:

- [1] 张喜平,田华,程琪辉.黄芩苷的药理作用研究现状[J].中国药理学通报,2003,19(11):1212-1215.
- [2] 吴卫华,康桢,欧阳冬生,等.绿原酸的药理学研究进展[J].天然产物研究与开发,2006,18:691-694.
- [3] 夏华玲.葛根素的药理作用研究进展[J].时珍国医国药,2006,17(3):434-435.
- [4] 张海珠,周浓,李海峰,等.HPLC法测定热速清颗粒中黄芩苷的含量[J].亚太传奇医药,2009,5(8):52-53.